

**MOLECULAR LEVEL EXAMINATION METHOD FOR PREDICTING COLORECTAL  
CANCER RISK WITH SNP OF MMP-1 AND MMP-3 GENES**

**Patent number:** JP2003235576  
**Publication date:** 2003-08-26  
**Inventor:** HINOTA YUJI; OKA MASAO  
**Applicant:** YAMAGUCHI TECHNOLOGY LICENSING  
**Classification:**  
**- international:** C12N15/09; C12Q1/68; C12N15/09; C12Q1/68; (IPC1-7): C12N15/09; C12Q1/68  
**- european:**  
**Application number:** JP20020040049 20020218  
**Priority number(s):** JP20020040049 20020218

**Report a data error here**

**Abstract of JP2003235576**

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To find and practically use SNP that can contribute to the establishment of a molecular level examination method targeting Mongoloid, especially Japanese, and enabling the prediction of colorectal cancer risk, from the SNP of a gene causing the colorectal cancer, by comparing a patient group with a health control group in a case-control study.

**SOLUTION:** The colorectal cancer risk of Mongoloid, especially Japanese, can be predicted by the examination method using the SNP of MMP-1 and MMP-3 genes.

**COPYRIGHT:** (C)2003,JPO

---

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号  
特開2003-235576  
(P2003-235576A)

(43) 公開日 平成15年8月26日 (2003.8.26)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	キーワード* (参考)
C 1 2 N 15/09	Z N A	C 1 2 Q 1/68	A 4 B 0 2 4
C 1 2 Q 1/68		C 1 2 N 15/00	Z N A A 4 B 0 6 3

審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 6 頁)

(21) 出願番号 特願2002-40049 (P2002-40049)

(22) 出願日 平成14年2月18日 (2002.2.18)

(71) 出願人 800000013  
有限会社山口ティール・エル・オー  
山口県宇部市東梶返1丁目10番8号 常盤  
工業会館内  
(72) 発明者 日野田 裕治  
山口県宇部市南小串1丁目1番1号 山口  
大学医学部  
(72) 発明者 岡 正朗  
山口県宇部市南小串1丁目1番1号 山口  
大学医学部  
(74) 代理人 100080539  
弁理士 高木 義輝

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 MMP-1 およびMMP-3 遺伝子のSNPを用いた大腸ガンの発症リスクを予測する分子レベルでの検査方法

(57) 【要約】

【課題】 Case-control study により患者集団と健康対照者群とを比較することにより、大腸ガンの原因遺伝子のSNPの内から、モンゴロイド特に日本人を対象とした、大腸ガンの発症リスクを予測できる分子レベルの検査方法の確立に寄与できるSNPを見出して、実用化することが課題である。

【解決手段】 MMP-1 遺伝子とMMP-3 遺伝子のSNPを用いた本発明の検査方法により、モンゴロイド特に日本人の、大腸ガンの発症リスクの予測が可能となった。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 モンゴロイドを対象とする、MMP-1およびMMP-3遺伝子のSNPを用いた大腸ガンの発症リスクを予測する分子レベルでの検査方法。

【請求項2】 日本人を対象とする、MMP-1およびMMP-3遺伝子のSNPを用いた請求項1に記載の検査方法。

【請求項3】 MMP-1遺伝子またはMMP-3遺伝子のSNPが、タンパク質のコード領域にはないことを特徴とする請求項1または2に記載の検査方法。

【請求項4】 MMP-1遺伝子またはMMP-3遺伝子のSNPが、MMP-1遺伝子またはMMP-3遺伝子のプロモーター領域にあることを特徴とする請求項1から3のいずれかに記載の検査方法。

【請求項5】 MMP-1遺伝子のプロモーター領域にあるSNPが、5'-GGA-3'コア配列モチーフを有する2Gアリルであることを特徴とする請求項1から4のいずれかに記載の検査方法。

【請求項6】 MMP-3遺伝子のプロモーター領域にあるSNPが、5'-AAAAA-3'コア配列モチーフを有する6Aアリルであることを特徴とする請求項1から4のいずれかに記載の検査方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】大腸ガン (colorectal cancer) の原因遺伝子の1塩基多型 (single nucleotide polymorphism; SNP) を用いた、大腸ガンの発症リスクを予測する分子レベルでの検査方法に関する。

【0002】

【従来の技術】大腸ガンは、日本を含めた世界中で、癌としては4番目に多い癌である。大腸ガンの発生率および死亡率は一般的に増加傾向にあり、1996年における患者数は875,000例と見積られており、新規な発症患者の8.5%を占めている。また、日本においては、1997年に33,194人が大腸ガンで死亡している (癌による死者全体の12%)。高野菜食や規則的な運動が、大腸ガンのリスクを減少させるという説得力のある疫学的証拠はあるものの、癌の発症のしやすさに関する分子レベルでの知見は、未だ報告されていない。例外として、家族性大腸腺種 (familial adenomatous polyposis; FAP) の原因遺伝子であるAPC (adenomatous polyposis coli)、遺伝性非ポリポシス大腸ガン (hereditary nonpolyposis colorectal cancer; HNPC) の原因遺伝子であるMLH1およびMSH2のような、稀だが浸透率の高い遺伝子変異が存在する症例において、大腸ガンの発症のしやすさは10%以下という報告 (Aaltonen LA et al., N. Engl. J. Med., 1998; 338: 1481-1487) を除けば、大腸ガン感受性の分子レベルでの基礎は、不明のままである。

【0003】MMP-1遺伝子のプロモーター領域に、

グアニン (G) が一つ余分な 5'-GGA-3' という配列を有するSNPが存在し、このSNPを有する2Gアリル (allele) は8種の癌細胞セルラインにおいて62.5% という高率に存在しており、1Gアリルを有する細胞株に比べてMMP-1遺伝子の発現が有意に高いことが報告されている (Rutter JL et al., Cancer Res., 1998; 58: 5321-5325)。また、最近のイタリア人大腸ガン患者60名と健康対照者群164名による試験結果から、2Gアリルの存在により、大腸ガン患者における腫瘍細胞の増殖と転移が増進する可能性があること、従って2Gアリルは患者の予後に対する危険因子と見なし得ることが示唆されている (Ghilardi G et al., Clin. Cancer Res., 2001; 7: 2344-2346)。このように、2Gホモ接合体のイタリア人における比率は、大腸ガン患者で有意に増加することが報告されたが、しかし被験者は60名とサンプルサイズは小さく、そのためかMMP-3との関連も認めていない。他の人種については、更に多くの集団での検討が必要である。

【0004】日本人2名の大腸ガン患者を対象として、腫瘍組織中と正常粘膜細胞中における種々の遺伝子の発現状態をcDNAマイクロアレイにより調べた報告があり、その中には、MMP-1遺伝子のデータも含まれている (Tsunoda T. et al., Anticancer Res., 2001; 21: 137-143)。患者Bの場合、調査した全遺伝子中で、腫瘍組織中と正常粘膜細胞中での発現量の差が最も高かったのは、MMP-1遺伝子であった。一方、もう一人の患者では、MMP-1遺伝子の発現量には全く差がなかった。このように、MMP-1遺伝子の発現量はすでに発症した大腸ガンの診断には有用な情報ではあるが、大腸ガンの発症リスクの診断には使えない。発症リスクを予測するためには、大腸ガンのような多因子性疾患においては、複数のSNP情報の組み合わせにより診断することが重要と考えられる。

【0005】一方で、人種による違いについても、注意が必要である。疾患の遺伝子診断に関しては、SNPの他にも、マイクロサテライト、塩基の欠損、塩基の挿入、繰り返し配列の回数の違い、制限酵素切断断片多型 (RFLP) など種々の遺伝子多型が知られている。これらの内では、ヒトのゲノム上に高頻度で存在するSNPが、疾患原因遺伝子のマーカーとして最も有用と言える。しかしながら、SNPが存在するゲノム上の位置や頻度は、人種により異なることが知られている。従って、遺伝的背景が比較的均一な集団において、多型解析と臨床情報の収集を行うことが必須である。例えば、日本人の多遺伝子性疾患の疾患感受性遺伝子を同定するためには、コーカソイド (西ユーラシア人集団) のゲノムの多型情報を、そのままモンゴロイド (東ユーラシア人集団) に属する日本人に適用することは難しい。モンゴロイドまたは日本人を対象として、臨床情報とSNP情報を収集し、遺伝子型 (genotype) と表現型 (phenotyp

e) との相関を検討することが必須である。

#### 【0006】

【発明が解決しようとする課題】 Case-control study により患者集団と健康対照者群とを比較することにより、大腸ガンの原因遺伝子の SNP の内から、モンゴロイド特に日本人を対象とした、大腸ガンの発症リスクを予測できる検査方法の確立に寄与できる SNP を見出し、実用化することが課題である。

#### 【0007】

【課題を解決するための手段】 糖尿病、高血圧や心疾患などの“ありふれた病気 (common disease)” の疾患原因遺伝子は、単一の遺伝子の変異により起こるものではなく、複数の遺伝子変異が重なることにより発症する多因子疾患 (polygenic disease) と考えられており、疾患原因遺伝子の探索や診断には、SNP 解析が有効と考えられる。このような、SNP のようなありふれた低浸透率の遺伝子変異 (variant) が、一般的には大腸ガン感受性の原因と考えられている。大腸ガンの危険因子に関する最近の遺伝子多型の総説 (Houlston RS et al., *Gastroenterology*, 2001; 121: 282-301) において、A PC 遺伝子の変異 Ileu 1307 Leu (OR = 1.58)、H arvey ras-1 variable number tandem repeat の多型 (OR = 2.50) および methylenetetrahydrofolate reductase の変異 Ala 677 Val (OR = 0.76) の3つの多型において、メタ分析により有意な関連が観察された。なお前記のORは、オッズ比 (odds ratio) を意味している。これらの変異体と関連する遺伝子型の危険度は中くらいであるが、それらの高い頻度を考慮すると、大腸ガンの全体的な負荷に対して相当なインパクトを有しているに違いない。大腸ガンに関して、有用な遺伝子がいくつ存在するのかが決定されていないけれど、このような遺伝子多型の組み合わせにより、大腸ガンのリスクをより正確に判定することが可能になることを期待できる。そのためには、これまでに報告されていない付加的な候補遺伝子を見出す必要がある。

#### 【0008】 Matrix metalloproteinases (MMPs)

は、細胞外マトリックスを分解する酵素ファミリーに属しており、腫瘍細胞の浸潤や転移に関与していることが知られている。現在までに、26個のヒトMMPが同定されており、これらの酵素は基質特異性や構造の類似性により分類されている。4つのMMP遺伝子、MMP-1、MMP-3、MMP-9およびMMP-12のプロモーター領域における遺伝子多型は、最近になって見出されたものであり、発現レベルに影響すること、心臓の冠状動脈疾患、腹部動脈瘤および癌に対する感受性に関連していることが示されている (Ye S, *Matrix Biol.*, 2000; 19: 623-629)。一方で、MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-7およびMMP-11が、大腸ガンの組織で発現されていることも知られている (Ye S, *Matrix Biol.*, 2000; 19: 623-629)。MMP-1 (collag-

enase-1) 遺伝子は、染色体の 11q22の位置に存在し、stromal fibroblast、macrophage、endothelial cell および epithelial cell といった多種類の正常細胞において発現されており、また種々の腫瘍細胞においても発現されている (Brinkerhoff CE et al., *Clin. Cancer Res.*, 2000; 6: 4823-4830)。

【0009】大腸ガンにおいてMMP-1の発現は、免疫組織化学的手法によって、Dukes分類に依存しない予後不良因子であることが示された。従ってMMP-1の発現レベル、およびそれによる結合組織分解および腫瘍成長を媒介するポテンシャルは、プロモーター領域に存在するSNPによって影響され得ることが報告されている (Rutter JL et al., *Cancer Res.*, 1998; 58: 5321-5325)。このSNPは-1607番目のグアノシン (G) の挿入または欠失に起因しており、2つのアリルが検出されている。一つは1個のGを有している 1Gアリルであり、もう一つは2個のGを有している 2Gアリルである。後者の2Gアリルは、隣のアデノシン (A) と一緒に、転写因子 Etsファミリーのためのコア配列モチーフ (5'-GGA-3') を形成しており、正常な繊維芽細胞やメラノーマ細胞における1Gアリルよりも、より高い転写活性の原因となっている (Rutter JL et al., *Cancer Res.*, 1998; 58: 5321-5325)。さらに、1Gまたは2Gバリエーションのどちらかを有しているルシフェラーゼ プロモーターは、ミトコンドリアの Mn-superoxide dismutase (Sod2) を過剰発現している細胞株中に一時的にトランスフェクションした時に、それぞれ25倍または1,000倍の転写活性を有しており、1Gに比べて2Gの方がより活性の高いことが示された (Ranganathan AC et al., *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 14264-14270)。癌患者における2G遺伝子型の頻度の増加は、卵巣癌においても予備的に報告されている (Kanamori Yet al., *Cancer Res.*, 1999; 59: 4225-4227)。

【0010】MMP-3 (stromelysin-1) 遺伝子もまた、MMP-1遺伝子に隣接して、染色体 11q22 上に局在している。MMP-3は、結合組織繊維芽細胞 (stromal fibroblast)、マクロファージおよび滑膜細胞により産生されており、大腸ガン組織においては、主として結合組織細胞で発現されている。MMP-3トランスジェニック マウスの乳腺において、前悪性および悪性傷害の自発的な発生が見られた。プロモーターの遺伝子多型は、-1171番目に位置するアデノシン (A) の多型トラックの長さの変化に起因しており、5つのアデノシン (5A) を有するアリルと、6つのアデノシン (6A) を有するもう一つのアリルに起因している。インビトロ プロモーター機能解析により、繊維芽細胞や血管平滑筋細胞においては、5Aアリルの方が6Aアリルと比較して、より高いプロモーター活性を有していた。しかしながら、癌患者におけるその役割は、いまだ報告されていない。

【0011】特に、MMP-3遺伝子に関しては、その発現が高いほど癌の発生する可能性が高まるとする仮説が存在している。この仮説は、MMP-3遺伝子を導入されたトランスジェニックマウスに乳癌が自然発症するという報告によって支持されている。しかし、MMP-3が大腸ガンで発現することの臨床病理学的意義は、これまで多くの研究がなされてきたにもかかわらず不明なままである。一つの可能な説明として、MMP-3の大腸がん発症における役割が間接的である可能性がある。最近、MMP-3の6Aアリルが、冠動脈硬化の促進と関連することを示した報告がある。以前の疫学的研究によって、冠動脈硬化と大腸腺腫が関連することが示唆されている。大腸腺腫は大腸ガンの前癌病変であるので、一つの仮説として、MMP-3の6Aアリルが、動脈硬化を促進することによって大腸ガン発症の危険因子になる可能性が考えられる。いずれにしても、本発明により明らかにされた、大腸ガンとMMP-3の6Aアリルとの相関は予期せぬ結果であった。これにより、MMP-1遺伝子の2GアリルとMMP-3の6Aアリルの両方を有する人は大腸ガンの発症リスクが高いことを予測できる、分子レベルでの検査方法が確立できた。

【0012】別の説明として、MMP-1とMMP-3遺伝子が存在する染色体 11q22 領域に、大腸ガンの発症に関連する他の遺伝子多型が、MMP-1およびMMP-3遺伝子多型に加えて、さらに存在する可能性が容易に類推できる。なぜならば大腸ガンは多因子性疾患であり、複数の遺伝子が関与していることは良く知られている事実である。このような考えに立つと、現時点でどの遺伝子多型がより重要かという議論は時期早尚であるように思われる。MMP-1とMMP-3遺伝子多型が連鎖不平衡にあることから、大腸ガンとMMP遺伝子との関連は単純なものではない可能性がある。従って、染色体 11q22 領域に存在する、その他の遺伝子のSNPの検査結果を追加することによって、より確度の高い大腸ガン検査方法となることは言うまでもない。

【0013】本発明において、case-control studyにより大腸ガン患者集団と健康対照者群とを比較解析することにより、大腸ガンの原因遺伝子のSNPの内から、モンゴロイド特に日本人を対象とした、大腸ガンの発症リスクを予測できる検査方法の確立に寄与できるSNPとして、MMP-1遺伝子とMMP-3遺伝子のSNPが適していることを見出した。これにより、発症前診断に利用することにより、大腸ガンの発症リスクを予測することが可能となった。発病した癌を治療することも重要であるが、発症の危険性を事前に把握して対策を考える方が好ましいことは言うまでもない。特に大腸ガンの場合、高野菜食や規則的な運動によって、発症のリスクを低減できることが知られている。従って、本発明によるMMP-1遺伝子とMMP-3遺伝子のSNPを用いた検査方法により、発症リスクの予測が可能となったことの

意義は大である。

【0014】

【発明の実施の形態】発明の実施の形態を、実施例にもとづき表を参照して説明するが、本発明はこれらの実施例のみに限定されるものではない。

【0015】

【実施例】大腸ガンの患者101名および健康なボランティア127名から、インフォームド コンセントを得た後に、DNA分析用として7mlの末梢血を採取した。年齢範囲41-90才の患者の平均年齢は68才であり、男性57名および女性44名であった。一方、健康対照者群のボランティアは男性72名と女性55名であり、31-99才の年齢範囲で、平均年齢68歳であった。試験のプロトコルは、山口大学医学部の学内倫理委員会による承認を受けた。すべての患者において、内視鏡検査および組織検査により大腸ガンという診断がなされた。また被験者はすべて、ネイティブな日本人である。DNAの分離は、コンベンショナルなNaI法 (Wang L et al., Nucleic Acids Res., 1994; 22: 1774-1775) に従って行い、4℃で保存した。

【0016】polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) 試験のために用いたプライマー セットの内、-1607 番目に位置するMMP-1プロモーター領域の1G/2G遺伝子多型の検出用には、順方向プライマーとして 5'-tgaggaaattgtagtagtaaatccttagaag-3'、逆方向プライマーとして 5'-tcccccttatggattcctgttttctt-3' を用いた。順方向のプライマーには2つのミスマッチが導入されており、それにより制限酵素 BslI による切断が可能にしている。

【0017】-1171 番目に位置する、MMP-3プロモーターの5A/6A多型のPCR-RFLP解析は、Dunleavy らの方法に従って行った (Dunleavy L et al., Atherosclerosis, 2000; 151: 587-589)。

【0018】PCR用の反応液の組成は、10μM の各プライマー溶液0.5μl、10×反応バッファー (100mM Tris-HCl pH8.3 at 25℃, 500mM KCl, 15mM MgCl<sub>2</sub>) 2.5μl、4種類のdNTPの1.25mM溶液 4μl、AmpliTaq DNA Polymerase 1μl、genomic DNA (80ng/μl) 1μlおよびH<sub>2</sub>O 15.5μlであり、総容積25μlで反応を行った。反応は95℃、2分で最初の変性処理を行った後、95℃で30秒、51℃で30秒および72℃で30秒の反応を30サイクル行わせた。PCR産物を制限酵素 BslI で切断後、3% アガロースゲル上で100V、30分間の電気泳動を行った後、エチジウム ブロマイドでゲルを染色した。また、PCR産物を直接シーケンシングして、PCR-RFLPにより同定された遺伝子型を、総てのケースに対して確認した。

【0019】MMP-1およびMMP-3遺伝子型は、

全サンプル(228名)、健康対照者のみ(127名)、患者のみ(101名)、健康対照者群の男性(72名)および女性(55名)、男性患者(57名)、女性患者(44名)において、Hardy-Weinberg 平衡にあった( $\chi^2 < 3.841$ ,  $P > 0.05$ )。大腸ガンの患者における遺伝子型の分布は、健康対照者群との比較では $\chi^2$ 乗検定を用いた。患者群と健康対照者群との関連に関しては、オッズ比(OR)および95%信頼区間(95%CI)を計算して評価した。MMP-1およびMMP-3多型間の関連は、EM (Expectation and Maximization) アルゴリズムにより評価した。なお、 $\chi^2$ 乗検定は、統計解析ソフト StatView 5 (SAS Institute Inc.,

NC)を用いて行った。

【0020】大腸がん患者群と健康対照者群との間で、MMP-1およびMMP-3遺伝子多型について遺伝子型を比較した。その結果MMP-1については、1G/1Gあるいは1G/2Gを有する個体数に比べて、2G/2Gを有する個体数が患者群において有意に増加していた( $P = 0.0067$ )。MMP-3については6A/6Aを有する個体数が患者群で有意に増加していた( $P = 0.0129$ )。アリル頻度でみても、2G、6Aともに大腸がん患者で有意に高頻度であった。

【0021】

【表1】

Table 1 Numbers (Percentages) of subjects with different MMP-1 and MMP-3 genotypes in colorectal cancer and control groups

Genotypes	Cases (n = 101)	Controls (n = 127)	P	OR [95% CI]
<b>MMP-1</b>				
1G/1G	8 ( 7.9%)	19 (15.0%)	0.0067*	2.077 [1.221-3.534]†
1G/2G	35 (34.7%)	58 (45.6%)		
2G/2G	58 (57.4%)	50 (39.4%)		
<b>MMP-3</b>				
5A/5A	3 ( 3.0%)	3 ( 2.4%)	0.0129*	2.110 [1.165-3.822]†
5A/6A	19 (18.8%)	44 (34.6%)		
6A/6A	79 (78.2%)	80 (63.0%)		

\*For statistical analysis using the data for MMP-1 SNP, a 2 x 2 contingency table containing the numbers of the subjects with 2G/2G genotype and those with the other genotypes in cancer and control groups was made, and the data were analyzed by the  $\chi^2$  test.

†For MMP-3 SNP, the contingency table containing the numbers of the subjects with 6A/6A genotype and those with the other genotypes was similarly analyzed.

\*Odds ratios and 95%CI's were similarly calculated.

【0022】EMアルゴリズムによってMMP-1およびMMP-3遺伝子多型間の関連を解析した結果、表2に示すようなロッドスコア D、D'、 $r^2$  が得られ、両多型が連鎖不平衡状態にあることが示された。なお、ロ

ッドスコア D、D'、 $r^2$  は、すべて連鎖不平衡の程度を示す統計学的指標である。

【0023】

【表2】

Table 2 Measures of pair-wise linkage disequilibrium between the MMP-1 1G/2G and MMP-3 5A/6A polymorphisms

	Lod Score	D	D'	$r^2$
Cases	9.161	0.081	0.880	0.324
Controls	6.827	0.092	0.749	0.226

Lod score, D, D' and  $r^2$  values were calculated as described in the Methods.

【0024】EMアルゴリズムによって推定された2つの遺伝子多型を含むハプロタイプ頻度を表3に示す。2G-6Aハプロタイプが最も高頻度に見られ、これを患者と健康対照者間で比較すると、統計学的に有意に患者

群で高頻度であった( $P = 0.0010$ )。

【0025】

【表3】

Table 3 Comparison of haplotype frequencies between colorectal cancer patients and controls

Haplotype	Numbers (Percentages)		P	OR [95% CI]
	Cases (n = 202)	Controls (n = 254)		
1G-5A	23 (11.3%)	42 (16.6%)		
1G-6A	28 (14.0%)	54 (21.2%)		
2G-5A	2 (1.1%)	8 (3.1%)		
2G-6A	149 (73.6%)	150 (59.1%)	0.0010 <sup>a</sup>	1.949 [1.305-2.911] <sup>b</sup>

<sup>a</sup>For statistical analysis, a 2 x 2 contingency table containing the estimated numbers of the 2G-6A haplotypes and those with the others was made, and the data were analyzed by the  $\chi^2$  test.

<sup>b</sup>Odds ratio and 95%CI were similarly calculated.

【0026】以上の結果から、MMP-1遺伝子のプロモーター領域における1G/2G遺伝子多型は、大腸ガンの病原学における重要なファクターであることが示された。この遺伝子多型は、転写レベルを調節することにおいて機能的に重要な因子であることが証明されている。それ故に、大腸ガンの進展に対する強い生物学的関連性を有している遺伝子多型の候補を代表している。大腸ガンの臨床組織サンプルにおいて、MMP-1の発現が浸潤、転移および予後に相関していることが明らかにされている。さらに、卵巣癌組織におけるMMP-1 mRNAのレベルは、1G/1G遺伝子型よりも、1G/2Gおよび2G/2G遺伝子型の方がより高いことが報告されており、MMP-1のインビボ発現レベルに及ぼす、1G/2Gおよび2G/2G遺伝子多型の意味のある影響を示している。

【0027】しかしながら、この遺伝子多型は、もっと重要な遺伝子多型と連鎖不平衡の状態にあるという可能性がある。従って、染色体上の11q22に位置するMMP遺伝子座の中に存在する、他の遺伝子多型に関する研究が必要である。

【0028】MMP-3の5A/6A多型もまた転写レベルに影響するが、予想外に最も転写レベルの低い6A/6A遺伝子型が大腸ガン患者で増加していた。11q22上のMMPクラスター遺伝子座の相対的な順番は、(セ

ントロメア) MMP-10、MMP-1、MMP-3、MMP-13(テロメア)の順である。従って、MMP-1遺伝子はMMP-3遺伝子の隣に存在している。しかしながらMMP-1およびMMP-3プロモーターの遺伝子多型間の関連については、いまだ何の報告もない。そこで本発明者らは、MMP-1およびMMP-3遺伝子型の間の関連をEMアルゴリズムによって評価し、連鎖不平衡の存在、すなわち1Gおよび2G対立遺伝子が5Aおよび6A対立遺伝子とそれぞれ連鎖不平衡の状態にあることを明らかにした。ハプロタイプ頻度で見ると、2G-6Aが最も高頻度であった。本ハプロタイプを大腸ガン患者と健康対照者間で比較すると、患者群で有意に高頻度であった。これらの結果から、MMP-1遺伝子とMMP-3遺伝子のSNPを用いた本発明の検査方法により、モンゴロイド特に日本人の、大腸ガンの発症リスクの予測が可能となった。

【0029】

【発明の効果】本発明により、MMP-1およびMMP-3遺伝子プロモーターのSNPが、日本人の大腸ガンに対する疾患感受性の予測に重要な役割を果たしていることが示され、モンゴロイド特に日本人を対象とした、大腸ガンの発症リスクを予測できる分子レベルでの検査方法が確立できた。

フロントページの続き

Fターム(参考) 4B024 AA12 CA02 CA04 DA02 FA02  
HA12 HA19  
4B063 QA12 QA13 QA19 QQ44 QR32  
QR62 QS25 QS31